

Japanese Kokai Patent Application No. Hei 4[1992]-267933

---

Job No.: 549-94273

Ref.: 202531/PALL

Translated from Japanese by the Ralph McElroy Translation Company  
910 West Avenue, Austin, Texas 78701 USA

JAPANESE PATENT OFFICE  
PATENT JOURNAL (A)  
KOKAI PATENT APPLICATION NO. HEI 4[1992]-267933

Int. Cl.<sup>5</sup>: B 01 D 65/06  
Sequence No. for Office Use: 8014-4D  
Filing No.: Hei 3[1991]-30406  
Filing Date: February 25, 1991  
Publication Date: September 24, 1992  
No. of Claims: 3 (Total of 3 pages)  
Examination Request: Not filed

SEPARATION MEMBRANE CLEANING METHOD

Inventor: Kazuhiro Shimoda  
Fuji Photo Film Co., Ltd  
210 Nakanuma  
Minamiashigara, Kanagawa

Applicant: 000005201  
Fuji Photo Film Co., Ltd.  
210 Nakanuma  
Minamiashigara, Kanagawa

[There are no amendments to this patent.]

Abstract

Objective

To maintain and restore the permeate flux in filtering raw fluid containing suspended matter using a membrane.

Constitution

In a dead end filtering system supplied with a raw fluid composed of a fluid containing suspended matter to filter said fluid by a separation membrane and separating same into the fluid

and the suspended matter, the pressure on the transmitted fluid side of the separation membrane is made higher than that on the side of the raw fluid to periodically perform backwashing. As a washing solution, a solution containing proteinase and cellulase is used to wash the separation membrane.

### Claims

1. Separation membrane cleaning method, characterized by using an enzyme solution as cleaning solution in a filtration method which is in turn characterized in that, in a dead-end filtration method for separating fluid and suspended matter by filtering a suspended matter-containing raw fluid through a membrane, periodic backwashing is carried out with the separation membrane permeate side under higher pressure than the raw fluid side.
2. The separation membrane cleaning method described in Claim 1, characterized by the minimum pore diameter or fractionation molecular weight of the separation membrane being larger than the enzyme molecular diameter or molecular weight in the cleaning solution.
3. The separation membrane cleaning method described in Claim 1 or 2, characterized by the enzyme included in the cleaning solution being proteinase or cellulase or both.

### Detailed explanation of the invention

[0001]

#### Industrial application field

The present invention concerns a separation membrane cleaning method, and more specifically concerns a novel membrane cleaning method using an alkali active enzyme-containing cleaning solution for retention and restoration of the membrane permeate flux by efficient cleaning and regeneration of membrane, in a dead-end filtration with periodic backwashing for maintaining a high membrane permeate flux. The separation membrane cleaning method of the present invention can be adapted to a dead-end filtration process maintaining a high membrane permeate flux by periodic backwashing of membranes used in separation and purification of bioproducts produced in the food and pharmaceutical industries. Until now, precision filtration membranes and ultrafiltration membranes have been used in alcoholic beverage production processes, e.g., removal of yeast, protein components and polysaccharides in the food industry; aseptic filtration of fluids and injectables in the pharmaceutical industry; removal of microparticles in ultra-pure water in the semiconductor production industry; removal of cladding [material] in condensate in nuclear and thermal power generation plants, etc. However, recently, with the rapid progress in biotechnology, the application range of precision filtration membranes and ultrafiltration membranes has been extended to separation of microorganisms from high density cultures of animal and plant cells, of

exoenzymes, of physiologically active polysaccharides from microorganisms, etc., separation and purification of solutions with a relatively high membrane load such as separation of endoenzymes from microorganism pulverizates. The increased membrane load increases resistance by membrane clogging, resulting in rapid decay of membrane permeate flux. Thus, it is necessary to carry out periodic backwashing for retention and restoration of the membrane permeate flux. The separation membrane cleaning method of the present invention can be adapted to such dead-end filtration processes involving periodic backwashing.

[0002]

Prior art

Cleaning methods for removing membrane contaminants can be divided largely into physical processes and chemical processes. Physical processes include use of hot water, pulsation, gas-water mixture washing, bead washing, etc. Such processes involve complex apparatus and operations, and often cleaning is not sufficient. Especially, in the case of precision filtration membranes, due to the lack of a surface skin layer, with accumulation of membrane contaminant not only on the membrane surface but also in membrane interior, cleaning is poor. Thus, in general, chemical cleaning using various detergents is carried out. For cleaning agents, surfactants, acids, alkalis, oxidizing and reducing agents, chelating agents, etc. can be used. They may be used singly or as mixtures thereof. However, in acid and alkali cleaning, unless cleaning is done at a very low pH with acids or at a very high pH with alkalis, the membrane permeate flux cannot be restored sufficiently, which may lead to degradation of membranes and limit selection of membranes. The membrane degradation and membrane selection limitation are also encountered with oxidizing and reducing agents. Such trends are especially significant in dead-end filtration processes with periodic backwashing used in separation and purification of solutions with relatively high membrane loading, such as separation of high-density cultures of animal and plant cells, exoenzymes and physiologically active polysaccharides from microorganisms, separation of endoenzymes from microorganism pulverizates, etc.

[0003]

Problems to be solved by the invention

An objective of the present invention is to provide a mild separation membrane cleaning method, especially a membrane cleaning method in the filtration of suspended matter from raw fluids using a precision filtration membrane with a high membrane load, without damaging the membrane to be cleaned and with no limitation in membrane selection, in a filtration process with sufficient membrane performance retention and restoration by efficient removal of membrane contaminants by high-frequency periodic backwashing.

[0004]

#### Means to solve the problems

The present invention concerns a separation membrane cleaning method, characterized by using an enzyme solution as a cleaning solution in a filtration method which is in turn characterized in that, in a dead-end filtration method for separating fluid and suspended matter by filtering a suspended matter-containing raw fluid through a membrane, periodic backwashing is carried out with the separation membrane permeate side under higher pressure than the raw fluid side. In beer filtration in the food industry and in separation of useful materials from high-density cultures of animal and plant cells and microorganisms, high-precision filtration membranes and ultrafiltration membranes have been used for separation of the cells and microorganisms from cultures. Cells and microorganism constitution components and culture components have large contents of proteins and polysaccharides, and they become the main constituents of contaminants adsorbed to the membranes. Rapid decomposition and desorption of such contaminants are necessary for retention and restoration of membrane performance. The proteins and polysaccharides that are major constitution components of membrane contaminants are decomposed by enzymes under mild conditions.

[0005]

Enzymes used in the cleaning solutions may be enzymes used in food and detergents, and protein decomposing enzymes may be proteinase, protease cultivated by bacillus microorganisms and cellulose decomposing enzymes may be cellulase cultivated by *Humicola insolens*, *trichobacteria*-originated  $\beta$ -glucanase, etc. These are adjusted to an optimum pH to obtain cleaning solutions used for periodic cleaning of the permeation solution side. Such enzymes may be used alone for achieving the objectives of the present invention, or they may be used together with surfactants. The surfactants may be nonionic or anionic, and nonionic surfactants are preferred. Nonionic surfactants have no adverse effects on enzyme activity. Cationic surfactants are not preferred because of their adverse effect on enzyme activity. Preferred surfactants include, e.g., polyoxyethylene alkyl ethers, polyoxyethylene alkylaryl ethers, polyoxyethylene alkylaryl ethers [sic], polyethylene glycol fatty acid ethers, polyoxyethylene fatty acid amide ethers, polyol fatty acid esters, sodium alkylbenzenesulfonate, higher alcohol sulfate ester sodium salt, sodium alkyl sulfate, sodium alkylsulfonate, sodium alkyl sulfosuccinate, sodium alkyl naphthalenesulfonate, sulfonated heterocyclic compounds, fatty acid-amino acid condensates, etc. Such surfactants are added at a concentration of 0.001-0.5%, preferably 0.2-0.4%. The cleaning method of the present invention can be adapted to precision filtration membranes having penetration pores diameter allowing penetration of the

enzyme molecules into the membrane interior or ultrafiltration membranes with a fractionation molecular weight 2-5 times larger than the enzyme molecular weight. There are no specific restrictions in membrane module form, and they may be a flat film laminate type, hollow fiber type, tubular type, or spiral type. The membranes may be cellulose acetate, polyacrylonitrile, polyvinyl chloride, polysulfones, polyamides, polyethylene, polypropylene, etc.

[0006]

#### Application examples

Next, the present invention is explained in further detail with application examples. However, the present invention is not limited to such application examples.

#### Application Example 1

Using a suspension of *Escherichia coli* (IFO3301) at a content of 1 dry g/L in 0.9 wt% saline solution and a precision filtration membrane of nominal pore diameter 0.2  $\mu\text{m}$ , dead-end filtration was carried out with periodic backwashing. The filter used had an effective membrane area 100  $\text{cm}^2$  with a pressure difference  $0.5 \times 10^4 \text{ Pa}$ , fluid temperature 25°C, filtration time 120 sec, backwashing flux  $1 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{sec}$  and backwashing time 3 sec. The backwashing solution was *B. subtilis*-originated alkali proteinase at 2000 PUN/mL in 0.1M sodium carbonate. With a cleaning solution of 0.1M sodium carbonate alone or sterilized water, the permeate flux did not recover with backwashing and decreased gradually. On the other hand, the permeate flux maintained a high value in dead-end filtration with periodic backwashing with the enzyme-containing cleaning solution of the present invention.

[0007]

#### Application Example 2

Tannic acid was dissolved at 20 ppm in a commercially available beer for coagulation of protein to obtain a suspension which was subjected to dead-end filtration with the periodic backwashing of the present invention using a precision filtration membrane of nominal pore diameter 2.0  $\mu\text{m}$ . The filter used had an effective membrane area of 100  $\text{cm}^2$  with a pressure difference  $0.5 \times 10^4 \text{ Pa}$ , fluid temperature 25°C, filtration time 60 sec, backwashing flux  $1 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{sec}$  and backwashing time 4 sec. The backwashing solution was *B. subtilis*-originated neutral proteinase at 2000 PUN/mL in 0.1M sodium carbonate and *bacillus*-originated endo-1,4- $\beta$ -glucanase at 2000 CUN/mL in 0.1M phosphate buffer solution. With a cleaning solution of 0.1M phosphate buffer solution alone or sterilized water, the permeate flux did not recover with backwashing and decreased gradually. On the other hand, the

permeate flux maintained a high value in dead-end filtration with periodic backwashing with the enzyme-containing cleaning solution of the present invention.

[0008]

#### Effect of the invention

According to the present invention, a high membrane permeate flux can be maintained and restored in dead-end filtration with periodic backwashing, thus separation, recovery, purification, concentration, etc. of suspended components can be performed efficiently and economically with various solutions containing suspended matter. Continuous processing and apparatus downsizing become possible.

JP 4-267933. pcf

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平4-267933

(43)公開日 平成4年(1992)9月24日

(51)Int.Cl.  
B 01 D 65/06

識別記号  
8014-4D

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全 3 頁)

(21)出願番号 特願平3-30406  
(22)出願日 平成3年(1991)2月25日

(71)出願人 000005201  
富士写真フィルム株式会社  
神奈川県南足柄市中沼210番地  
(72)発明者 下田 一弘  
神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真  
フィルム株式会社内

(54)【発明の名称】 分離膜洗浄方法

(57)【要約】

【目的】 膜を用いて懸濁物質を含む原流体を通過する際の透過流束を維持回復する事を目的とする。

【構成】 分離膜を用いて、懸濁物質を含む流体からなる原流体を供給し通過することにより流体と懸濁物質とを分離するデッドエンド通過方式において、分離膜の透過流体側の圧力を原流体側の圧力より大きくして周期的に逆洗を行うことを特徴とする通過方式において、洗浄液としてタンパク質分解酵素およびセルロース分解酵素を含む溶液を用いることを特徴とする分離膜の洗浄方法。

(2)

特開平4-267933

1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 分離膜を用いて、懸濁物質を含む流体からなる原流体を供給し通過することにより流体と懸濁物質とを分離するデッドエンド通過方式において、分離膜の透過流体側の圧力を原流体側の圧力より大きくして周期的に逆洗を行うことを特徴とする通過方式において、洗浄液として酵素を含む溶液を用いることを特徴とする分離膜の洗浄方法。

【請求項 2】 分離膜の最小孔径あるいは分子量が洗浄液に含まれる酵素分子径あるいは分子量よりも大きいことを特徴とする請求項 1 に記載の分離膜の洗浄方法。

【請求項 3】 洗浄液に含まれる酵素がタンパク質分解酵素、セルロース分解酵素のいずれかあるいは両方であることを特徴とする請求項 1 もしくは 2 に記載の分離膜の洗浄方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、分離膜の洗浄方法に関するものであり、特に大きい膜透過流速を維持するため逆洗を周期的に行うデッドエンド通過方式において、膜を効率よく洗浄再生することにより膜透過流速を維持回復できるアルカリ活性酵素を含む洗浄液を用いた新規な膜の洗浄方法に関するものである。本発明の分離膜洗浄方法は、食品・医薬品工業において生産されるバイオ生産物の分離精製のために用いられる膜を周期的逆洗によって大きな膜透過流速を維持するデッドエンド通過方式の膜洗浄に適用される。これまで、精密過濾膜、限外通過膜は食品工業におけるアルコール飲料製造プロセス、例えばビール製造工程での酵母、蛋白成分、多糖類の除去、あるいは医薬品製造工業における輸液剤、注射剤の無菌通過、半導体製造工業における超純水中の微粒子除去、原子力・火力発電プラントにおける復水中のクラッド除去などに使われていた。しかしながら、近年バイオテクノロジーの急速な発展に伴い、精密過濾膜、限外通過膜の適用範囲が動・植物細胞の高密度培養、菌体外酵素、生理活性多糖類の菌体からの分離、菌体破砕物からの菌体内酵素の分離など比較的膜負荷の大きな溶液の分離精製へと広がっている。膜負荷の増大は懸濁物質による膜の目詰まり抵抗が大きくなつて膜透過流速を急激に低下させる。このため周期的逆洗によって膜透過流速を維持回復する必要がある。本発明の分離膜洗浄方法はこのような周期的逆洗を伴うデッドエンド通過方式の分離膜の洗浄に適用することができる。

【0002】

【従来の技術】 膜汚染物質を除去する洗浄方法としては、大きく物理的方法と化学的方法がある。物理的方法としては温水、振動、気水混合洗浄、ピーズ洗浄等がある。これらは装置および操作が複雑となるとともに、十分な洗浄性が得られないことが多い。特に、精密過濾膜

2

では表面スキン層がないため、膜汚染物質が膜表面だけでなく膜内部にも堆積するため洗浄性が發揮されない。このため、種々の洗浄剤を使用した化学的洗浄方法が一般的に行われている。洗浄剤としては界面活性剤、酸、アルカリ、酸化・還元剤、キレート剤などが用いられ、これらを単独ないし併用して使用している。しかし、酸・アルカリ洗浄では、そのpHを相当低いあるいは相当高い領域にして膜洗浄を実施しなければ膜透過流速を十分に回復することができない。これは膜の劣化を招くと同時に使用できる膜素材を限定することになる。酸化・還元剤の使用についても同様に膜の劣化と膜素材の限定が必要である。特に、動・植物細胞の高密度培養、菌体外酵素、生理活性多糖類の菌体からの分離、菌体破砕物からの菌体内酵素の分離など比較的膜負荷の大きな溶液の分離精製へ適用する周期的逆洗によるデッドエンド通過方式においては限界となる。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、頻度の高い周期的逆洗によって膜汚染物質を効率よく除去して膜性能の十分な維持回復をはかることを目的とする通過方法において、洗浄すべき膜素材にダメージを与えることなく、使用する膜素材が限定されることのない、マイルドな膜洗浄方法、特に精密過濾膜を用いて膜負荷の大きな原流体から懸濁物質を通過する場合の膜洗浄方法を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明は、分離膜を用いて、懸濁物質を含む流体からなる原流体を供給し通過することにより流体と懸濁物質とを分離するデッドエンド通過方式において、分離膜の透過流体側の圧力を原流体側の圧力より大きくして、洗浄液を透過流体側から供給し周期的に逆洗を行う通過方式において、洗浄液として酵素を含む溶液を用いることを特徴とする分離膜の洗浄方法である。食品工業におけるビール過濾、動・植物細胞の高密度培養、菌体内および菌体外からの有用物質の分離において精密過濾膜、限外通過膜は培養液からの細胞および微生物の分離に用いられる。培地成分、細胞および微生物構成成分には多くのタンパク質や多糖類が含まれておりこれらが膜に吸着付着し膜汚染物質の主たる構成成分となっている。これらを速やかに分解脱着することが膜性能の維持回復に必要である。膜汚染物質の主たる構成成分であるタンパク質、多糖類は酵素によってマイルドな条件で分解することができる。

【0005】 洗浄液に用いる酵素としては、食品用、洗剤用酵素として用いられているものであればいずれでもよく、タンパク質分解酵素としてはパシルス属の微生物を培養して得られるプロテイナーゼ、プロテアーゼ、セルロース分解酵素としてはフミコラ インソレンスを培養して得られるセルラーゼ、糸状菌由来のβ-グルカナーゼ等がある。これらをそれぞれの至適pHに調整し洗

(3)

特開平4-267933

3

清液を調製して透過液側から周期的洗浄を行う。これらの酵素を単独で用いても本発明の目的を達成することができるがこれらに界面活性剤を添加しても良い。界面活性剤としては任意のノニオン性、アニオン性のものが使用できるが、ノニオン界面活性剤が酵素活性を阻害しないため好ましい。また、カチオン界面活性剤は酵素活性を阻害するため好ましくない。好ましい界面活性剤としては、例えばポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアリールエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアリールエーテル、ポリエチレンジリコール脂肪酸エーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸アミドエーテル、多価アルコール脂肪酸エステルアルキルベンゼンスルホン酸ソーダ、高級アルコール硫酸エステルナトリウム、アルキル硫酸エステルナトリウム、アルキルスルホン酸ナトリウム、アルキル硫酸ナトリウム、アルキル硫酸ナトリウム、アルキルナフタリンスルホン酸ソーダ、ホルマリン結合物、アルキルナフタリンスルホン酸ソーダ、スルホン化複素環式化合物、脂肪酸・アミノ酸結合物等が挙げられる。これらの界面活性剤は0.001~0.5%の濃度、好ましくは0.2~0.4%の濃度となるように添加すればよい。本発明の洗浄方法は、酵素分子が膜内部へ進入可能な程度の貫通孔径を有する精密透過膜、あるいは分画分子量が酵素分子の分子量に比べて2~5倍以上の大ささである膜外透過膜に適用できる。膜モジュール形態については特に限定するものではなく、例えば平膜積層型、中空糸型、管状型、スパイラル型いずれでもよい。膜素材としては、酢酸セルロース、ポリアクリロニトリル、ポリ塩化ビニル、ポリスルホン、ポリアミド、ポリエチレン、ポリプロピレンを用いた膜の洗浄に広く利用できる。

#### 【0006】

【実施例】以下に具体例をあげて本発明をさらに詳しく説明するが、発明の主旨を超えない限り本発明は実施例に限定されるものではない。

##### 実施例1.

大腸菌 (IFO3301) を0.9wt%の生理食塩水に1dryg/lの含有率で分散させたものを懸濁液と

4

して用い、公称孔径0.2μmの精密透過膜を用いて本発明の逆洗を周期的に行うデッドエンド型透過を行った。使用した透過器は有効膜面積100cm<sup>2</sup>で、実験条件は圧力差0.5×10<sup>4</sup>Pa、液温度25℃であり、透過時間120秒、逆洗流束1×10<sup>-3</sup>m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/sec、逆洗時間3秒で行った。逆洗液としてB.subtilis起原のアルカリプロテイナーゼを2000PUN/mlを0.1M炭酸ナトリウムに溶解したものを用いた。洗浄液として0.1M炭酸ナトリウムのみあるいは滅菌水を用いたものでは透過流束は逆洗で十分回復せず透過流束は徐々に減少している。それに対し本発明の酵素を含む洗浄液で逆洗を周期的に行うデッドエンド型透過では透過流束は高い値を維持した。

#### 【0007】実施例2

市販のビールにタンニン酸20ppmを溶かして、タンパク質を凝聚させたものを懸濁液として用い、公称孔径2.0μmの精密透過膜を用いて本発明の逆洗を周期的に行うデッドエンド型透過を行った。使用した透過器は有効膜面積100cm<sup>2</sup>で、実験条件は圧力差0.5×10<sup>4</sup>Pa、液温度25℃であり、透過時間60秒、逆洗流束5×10<sup>-3</sup>m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/sec、逆洗時間4秒で行い逆洗液にはB.subtilis起原の中性プロテイナーゼを2000PUN/mlおよび糸状菌起原のエンドー1,4-β-グルカナーゼを2000CUN/mlを0.1Mリン酸緩衝液に溶解したものを用いた。洗浄液として0.1Mリン酸緩衝液のみあるいは滅菌水を用いたものでは透過流束は逆洗で十分回復せず透過流束は徐々に減少している。それに対し本発明の酵素を含む洗浄液で逆洗を周期的に行うデッドエンド型透過では透過流束は高い値を維持した。

#### 【0008】

【発明の効果】本発明によれば、逆洗を周期的に行うデッドエンド型透過方式において高い膜透過流束を維持回復することができ、それによって種々の懸濁物質を含有する液体から各懸濁成分の分離、回収、精製、濃縮などがきわめて効率的しかも経済的に行われる。そしてさらにプロセスの連続化及び装置の小型化が可能である。